

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES
FACULDADE DE MEDICINA

AÇÕES ELETROFISIOLÓGICAS DA PIRIDOSTIGMINA
EM HUMANOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ALEXANDRE LIBERMAN

Porto Alegre, julho de 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE:
CARDIOLOGIA E CIÊNCIAS CARDIOVASCULARES
FACULDADE DE MEDICINA

AÇÕES ELETROFISIOLÓGICAS DA PIRIDOSTIGMINA
EM HUMANOS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

ALEXANDRE LIBERMAN

ORIENTADOR: PROF. DR LEANDRO ZIMERMAN

Porto Alegre, julho de 2003.

AGRADECIMENTOS

Ao longo do trabalho contei com o auxílio de várias pessoas a quem desejo agradecer.

Ao Dr Leandro Zimerman, que me concedeu a oportunidade de desenvolver este trabalho no qual me orgulho de ser seu orientando.

Ao Dr Cláudio Medeiros, que auxiliou nos registros eletrofisiológicos de todos os pacientes.

Ao Dr Murilo Foppa pela análise estatística e por todo apoio que me deu durante todo trabalho.

À Dra Nadine Clausell por acompanhar e acreditar na resolução do trabalho, dando o apoio possível para a realização do mesmo.

Às enfermeiras e auxiliares do estudo eletrofisiológico invasivo, pelo carinho e compreensão da realização desta pesquisa no meio de trabalho.

Aos meus colegas de trabalho que direta ou indiretamente auxiliaram na pesquisa, em especial ao Dr Rogério Bueno Tovar.

Aos meus familiares, em especial Selda Engelmann, por me incentivar a fazer o Mestrado.

À minha namorada, Fabíola, pela paciência e apoio até o fim da dissertação.

Acima de tudo, agradeço a Deus.

LISTA DE ABREVIATURAS

NÓ AV	NÓ ATRIOVENTRICULAR
AH	INTERVALO ÁTRIO-HIS
HV I	INTERVALO HIS-VENTRÍCULO
FC	FREQÜÊNCIA CARDÍACA
PA	INTERVALO SINO-ATRIAL
MS	MORTE SÚBITA
I-ECA	INIBIDORES DA ENZIMA CONVERSORA
Bloq.	BLOQUEADORES
B	BETA
Bas	BÁSICO
Pirid	PIRIDOSTIGMINA
Wenc.	WENCKEBACH
Contr.	CONTROLE
TRS	TEMPO DE RECUPERAÇÃO SINUSAL
AT	PERÍODO REFRAATÁRIO ATRIAL
VE	PERÍODO REFRAATÁRIO VENTRICULAR
AV	PERÍODO REFRAATÁRIO DO NÓ ATRIOVENTRICULAR
EEF	ESTUDO ELETROFISIOLÓGICO

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Características clínicas e demográficas dos pacientes.....

LISTA DE FIGURAS

Figura I Médias e intervalos de confiança (95%) do Ciclo Básico e Ponto de Wenckebach

Figura II Médias e intervalos de confiança (95%) do tempo de recuperação sinusal

Figura III Médias e intervalos de confiança (95%) dos intervalos de condução atrioventriculares

Figura IV Médias e intervalos de confiança (95%) dos períodos refratários atriais

Figura V Médias e intervalos de confiança (95%) dos períodos refratários do nó atrioventricular

Figura VI Médias e intervalos de confiança (95%) dos períodos refratários ventriculares

RESUMO

INTRODUÇÃO. O Brometo de piridostigmina tem demonstrado atividade cardíaca, ao aumentar a variabilidade da frequência cardíaca e diminuir as extrassístoles ventriculares em pacientes com insuficiência cardíaca. Como droga de potencial efeito antiarrítmico, faz-se necessário testar suas modificações nas variáveis eletrofisiológicas, passo inicial no desenvolvimento e uso das drogas com efeito antiarrítmico.

OBJETIVO. Avaliar os efeitos eletrofisiológicos da piridostigmina em pacientes com indicação prévia para realizar o procedimento.

MÉTODOS. Pacientes com indicação para estudo eletrofisiológico participaram de um estudo quase-experimento testando o uso da piridostigmina nas ações eletrofisiológicas. Os pacientes selecionados realizavam seus exames sem efeito da piridostigmina, sendo registradas as variáveis em estudo, intervalos de condução, ciclo básico, ponto de Wenckebach, períodos refratários atriais, do nó atrioventricular e ventriculares. O exame era repetido após uma hora e meia do uso da droga, 45 mg de dose única de piridostigmina, e novamente eram registradas as principais variáveis do estudo.

RESULTADOS. A amostra compreendeu 15 pacientes, e as principais indicações foram síncope e palpitações. O ciclo básico obteve uma média sem o efeito da piridostigmina e após sua ação de $906 \pm 143,32\text{ms}$ vs $914 \pm 152,03\text{ms}$, $p=0,58$. A recuperação sinusal na medida de 600ms foi de $275,85 \pm 110\text{ms}$ vs $248,57 \pm$

123,40ms, $p=0,489$. A média do intervalo de condução AH controle e piridostigmina foi $88,60\pm 31$ ms vs $92,80\pm 35$ ms, $p= 0,872$. A média do período refratário atrial, controle e piridostigmina, no ciclo de 600ms foi $147,08\pm 124$ ms vs $122,83 \pm 120$ ms, $p=0,478$. A média do período refratário do nó atrioventricular no ciclo de 600ms foi $327,69\pm 76$ ms vs $345,38\pm 89$ ms $p=0,06$. Por fim, a comparação entre as médias do período refratário ventricular no ciclo de 400ms foi de $238,00\pm 28$ ms vs $245,33\pm 33$ ms, $p=0,028$.

CONCLUSÃO. A piridostigmina não alterou consistentemente significativamente as variáveis eletrofisiológicas na amostra de pacientes estudados.

1. INTRODUÇÃO

A piridostigmina é um fármaco parassimpaticomimético, pois inibe a ação da acetilcolinesterase. Esta é uma enzima que degrada por hidrólise a acetilcolina na fenda sináptica. Drogas que inibem a acetilcolinesterase reduzem a degradação da acetilcolina na fenda sináptica, fazendo com que ela permaneça mais tempo ativa nas terminações nervosas.

A piridostigmina é um composto de ação reversível, de efeito proporcional à dose ingerida, que pode ser administrada por via oral e tem baixa incidência de efeitos colaterais

Dados prévios, avaliando voluntários normais, demonstraram redução da frequência cardíaca em repouso com piridostigmina em doses únicas¹. Além disso, reduz a resposta do duplo produto durante estresse mental e inibe a resposta cronotrópica ao exercício dinâmico sem reduzir a capacidade funcional². Outro efeito da piridostigmina é a dispersão do intervalo QTc em indivíduos saudáveis.³ Mais recentemente, demonstrou-se redução da frequência cardíaca média e aumento da variabilidade da frequência cardíaca de 24hs com a administração da piridostigmina a curto prazo em voluntários normais.⁴ Na mesma linha de pesquisa, demonstrou-se que a administração de piridostigmina a curto prazo é segura, reduz a frequência cardíaca, aumenta a variabilidade da mesma e reduz as

extrassístoles ventriculares em pacientes estáveis com insuficiência cardíaca⁵.

As drogas com ação antiarrítmica costumam apresentar alterações nos períodos refratários e velocidade de condução de estímulo, o que pode desencadear bloqueios ou desenvolvimento de mecanismos de reentrada e o aparecimento de taquiarritmias. Para se ter um maior conhecimento sobre as alterações destas drogas nas propriedades eletrofisiológicas cardíacas, elas costumam ser testadas com estudo eletrofisiológico invasivo.

Em suma, a piridostigmina, bastante conhecida no uso de quadros neurológicos, tem mostrado atuação em determinadas funções cardíacas, como a variabilidade da frequência cardíaca e a incidência de extrassístoles. Como droga de potencial efeito antiarrítmico, faz-se necessário o estudo das modificações que seu uso geram nas propriedades eletrofisiológicas cardíacas, passo inicial no desenvolvimento e uso de drogas antiarrítmicas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Piridostigmina e Efeitos cardiovasculares:

Apesar de ser um fármaco de uso rotineiro para o tratamento de pacientes com miastenia gravis, poucos estudos controlados investigaram de modo mais detalhado os seus efeitos cardiovasculares.

Asura et al, 1987⁶, avaliaram 1000 pacientes com miastenia gravis em uso de anticolinesterásicos (piridostigmina, neostigmina e edrofônio) isolados ou em associação, observando efeitos adversos cardiovasculares em apenas doze dos pacientes (1%). Os efeitos encontrados foram hipotensão arterial, bradiarritmias (bradicardia sinusal severa, bradicardia juncional e bloqueio atrioventricular total), taquicardia sinusal, síncope e pré-síncope. Entretanto cinco deles usavam duas drogas anticolinesterásicas associadas e dentre estes um também usava digoxina. Dos sete que usavam apenas uma droga, somente dois usavam piridostigmina. Nele os efeitos ocorreram após aumento da dose (135mg de 3/3hs) e desapareceram após atropina e diminuição da dose (120mg de 4/4hs). Portanto a piridostigmina foi a responsável por efeitos adversos cardiovasculares em apenas 0,2% dos casos e somente quando utilizada em altas doses.

Estudos com indivíduos normais (Gall, 1981, Borland et al, 1985, Izraeli et al, 1990 e 1991, Epstein et al, 1990)⁷ demonstraram que a administração de 90mg/ dia de piridostigmina via oral em 3 doses separadas (induzindo 20-40% de

inibição da atividade da acetilcolinesterase) não leva a efeitos colaterais significativos em pessoas saudáveis, sendo bem tolerada e segura.

O primeiro estudo realizado prospectivamente para avaliar as influências cardiovasculares de piridostigmina em pacientes utilizando drogas cardiodepressoras foi de Arad et al, 1992⁸. Eles avaliaram o efeito de 30mg de brometo de piridostigmina de 8/8hs ou placebo durante dois dias em pacientes hipertensos em tratamento com beta-bloqueadores. Não foi observada nenhuma alteração significativa na frequência cardíaca em repouso, durante o esforço, no Holter de 24hs e na pressão arterial de repouso. Durante o teste esforço foi observado diminuição significativa da pressão arterial diastólica. Não ocorreram alterações nos níveis plasmáticos de catecolaminas e nem efeitos colaterais. Os autores concluíram ser seguro associar o brometo de piridostigmina em baixas doses com beta-bloqueadores.

Estudos têm sido realizados em militares sadios utilizando a dose de 30mg 8/8hs via oral, para averiguar a segurança e tolerabilidade do seu uso na profilaxia da intoxicação por gases venenosos organofosforados de uso bélico. Em situações de estresse bélico, não foram evidenciadas alterações do desempenho no controle de aeronaves (Grawron et al,1990), acuidade visual (Borland et al, 1985), funções oculomotoras e de adaptação visual à escuridão (Wiley et al, 1992). Estudos realizados em condições de exercício físico, sob calor e hipohidratação ou em água gelada não encontraram efeitos adversos. Mesmo no caso de nove militares na Guerra do Golfo que tentaram suicídio com dose de 390 a 900mg de piridostigmina foram observados apenas efeitos colinérgicos moderados: câimbras, diarreia, náuseas, vômitos, hipersalivação, incontinência urinária, miofasciculações, fraqueza muscular e visão borrada, não ocorrendo

nenhuma alteração no sistema nervoso central e sendo necessária atropina apenas em três pacientes⁹.

2.2. Efeitos do Sistema Nervoso Autônomo Parassimpático na Condução Cardíaca.

Já que a piridostigmina é um parassimpaticomimético indireto, convém detalhar o que seria esperado de respostas, da administração da medicação em humanos, nas variáveis eletrofisiológicas.

No nó sinusal o parassimpático é preponderante nos efeitos autonômicos destas fibras, embora a inervação do simpático seja quantitativamente semelhante. Estudos experimentais demonstram que o bloqueio tanto do simpático como parassimpático, resulta em aumento da freqüência cardíaca, corroborando a superioridade do efeito vagal no nó sinusal¹⁰.

É de se esperar que pela ação parassimpática da piridostigmina os efeitos eletrofisiológicos sejam: cronotropismo negativo com aumento do ciclo basal; um aumento no limiar de excitabilidade do nodo sinusal (batmotropismo positivo), diminuindo a automaticidade e, portanto, aumentando o tempo de recuperação do nodo sinoatrial¹¹.

Em relação nó AV, tanto o parassimpático como o simpático atuam nestas fibras. Os efeitos do parassimpático nestas fibras são de dromotropismo negativo conforme demonstrado pelo efeito vagal, ocasionando bloqueio de Wenckebach durante o sono ou na hipersensibilidade carotídea. Por isso, o aumento do intervalo AH durante a estimulação parassimpática é um feito esperado, com uso de parassimpaticomiméticos. Por outro lado, os dados sugerem que os efeitos do

parassimpático no intervalo HV são mínimos e que não deveria haver alterações desta variável em nosso estudo¹².

Os átrios são bem mais inervados que os ventrículos pelas fibras parassimpática. Dois estudos apontam diminuição de refratariedade dos átrios e aumento do período refratário dos ventrículos durante a estimulação colinérgica¹³.

2.3. Trabalhos experimentais de fármacos em estudo eletrofisiológico invasivo em humanos

Em 1976, foi publicado estudo em um periódico francês relatando os efeitos da amiodarona endovenosa nos parâmetros eletrofisiológicos em humanos. Foram 23 pacientes submetidos ao estudo. Os resultados mostraram diminuição da condução no nó AV, um aumento no período refratário efetivo atrial, aumento persistente do período refratário efetivo do nó AV e aumento do período refratário efetivo dos ventrículos. Estes achados trouxeram os mecanismos antiarrítmicos da amiodarona¹⁴.

Em 1981, outro periódico francês publicou os efeitos antiarrítmicos do sotalol intravenoso em humanos. Foram estudados 15 pacientes e os parâmetros analisados foram FC, tempo de recuperação do nó sinusal, tempo de condução sinoatrial, período refratário atrial efetivo e funcional, ponto de Wenckebach, período refratário efetivo e funcional do nó AV, intervalos AH, HV e períodos refratários ventriculares. Os achados mostraram redução da FC (16%), aumento do intervalo AH (5%), aumento do período refratário efetivo do nó AV (26%), diminuição do ponto de Wenckebach (18%). Outras propriedades são o aumento dos períodos refratários efetivos do átrio e ventrículo direito, aumento do intervalo intra-atrial PA¹⁵.

Mais recentemente, um estudo japonês avaliou os efeitos eletrofisiológicos de uma nova droga classe III. O número de pacientes foram 6 e o estudo foi realizado antes e depois da administração da medicação. Os principais resultados de diferença significativa foram no período refratário efetivo atrial em ciclos de 600ms (de 222 ± 19 para 250 ± 23 ms, $p=0,0009$), 400ms (de 207 ± 15 para 228 ± 15 ms, $p= 0,0001$). Os períodos refratários efetivos ventriculares também foram prolongados em ciclos de 600ms (de 240 ± 24 ms para 268 ± 23 ms, $p=0.0001$) e 400ms (de 225 ± 22 para 268 ± 23 ms, $p<0007$)¹⁶.

Os efeitos do Pentisomide (CM-7857) foram avaliados em humanos, mostrando propriedades eletrofisiológicas da classe I de antiarrítmicos. O intervalo AH aumentou 8 ± 12 ms ($p<0,05$) no basal e num ciclo de 600ms de 13 ± 21 ms ($p<0,05$). O intervalo HV também aumentou de 6 ± 10 ms em ritmo sinusal. Além disso, houve prolongamento do QRS de 9 ± 10 ms, e o intervalo QTc foi diminuído significativamente¹⁷.

3. HIPÓTESE

A administração de piridostigmina, através de alterações no sistema nervoso autônomo, altera propriedades eletrofisiológicas específicas, como o aumento do tempo de recuperação do nó sinusal, aumento nos intervalos de condução atrioventricular e prolonga períodos refratários.

4. OBJETIVOS

1. Avaliar os efeitos eletrofisiológicos da piridostigmina em pacientes com indicação prévia para realizar o procedimento.
2. Avaliar a segurança e tolerabilidade em curto prazo da administração de piridostigmina via oral a pacientes com indicação de estudo eletrofisiológico invasivo.

REFERÊNCIAS

1. Nóbrega ACL, Carvalho ACG, Bastos BG. Resting and reflex heart rate responses during cholinergic stimulation with pyridostigmine: hemodynamic and echocardiographic analysis in healthy subjects. *Arq Bras Cardiol* 1999; 72: 297-306.
2. Serra SM, Costa RV, Bastos BG, et al. Cardiopulmonary exercise testing during cholinergic stimulation with single dose of pyridostigmine in healthy subjects. *Arq Bras Cardiol* 2001; 76: 279-284.
3. Castro RR, Serra SM, Nóbrega AC. Reduction of QTc interval dispersion: potential mechanism of cardiac protection of pyridostigmine bromide. *Arq Bras Cardiol* 2000; 75:205-213.
4. Nóbrega ACL, Reis AF, Moraes RS, et al. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigmine in healthy subjects. *Clin Auton Research* 2001; 11:11-17.
5. Behling A, Moraes RS, Rohde LE. Cholinergic Stimulation with Pyridostigmine Reduces Ventricular Arrhythmia and Enhances Heart Rate Variability in Heart Failure. Porto Alegre and Niteroi, Brasil.
6. Borland R.G., BrennanDH, Nicholson A.N. et al Studies on the possible central and peripheral effects in man of a colinesterase inhibitor (Pyridostigmine). *Human Toxicol* 1985; 4 : 293-300.

7. Arad M, Roth A, Zelinger J et al. Safety of pyridostigmine in hypertensive patients receiving beta blockers. *Am J Cardiol* 1992 ; 69 : 518-522.
8. Almog, S, Winkler, E, Amitai, Y et al Acute pyridostigmine overdose a report of nine cases. *Isr J Med Sci* 1991 ; 27: p 659-663.
9. Arsura E.L., Brunner N.G., Namba T et al. Adverse cardiovascular effects of anticholinesterase medications. *Am J Med Sci* 1987; 293:18-23..
10. Wit AL. Patterns of atrioventricular conduction in the human heart. *Circ Res* 1970; 27: 345.
11. Levy MN, Zieske H. Autonomic control of cardiac pacemaker activity and atrioventricular transmission. *J Appl Physiol* 1969; 27: 465..
12. Markel ML et al: Parasympathetic and sympathetic alterations of Mobitz type II heart block. *J Am Coll Cardiol* 1988 ;11: 271,
13. Prystowsky EN. Enhanced parasympathetic tone shortens atrial refractoriness in man. *Am J Cardiol* 1983; 51: 96.
14. Touboul P, Huerta F, Porte J, et al. Electrophysiologic basis of the antiarrhythmic action of amiodarone in man. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1976;69 (8): 845-53.
15. Clementy J, Falquier JF, Danis C, et al. Electrophysiological properties of acute intravenous sotalol in man. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1981;74 (9):1089-97.
16. Naitoh N, Taneda K, Tagawa M, et al. Electrophysiologic effects of intravenous MS-551, a novel class III antiarrhythmic agent, on human atrium and ventricle. *Jpn Heart J* 1998;39 (3): 297-305.

17. Olsson SB, Edvardsson N, Newell PA, et al. Effect of pentisomide on myocardial excitation, conduction, repolarization, and refractoriness. An electrophysiological study in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;18(6): 849-54.

**AÇÕES ELETROFISIOLÓGICAS DA PIRIDOSTIGMINA
EM HUMANOS**

ALEXANDRE LIBERMAN

LEANDRO ZIMERMAN

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências
Cardiovasculares, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande
do Sul (UFRGS)

Endereço para Correspondência:

Alexandre Liberman

Rua Venâncio Aires 402/702

Porto Alegre, RS, Brasil CEP:90000

Fone: (51) 3225 4639

E-mail: Aliberman@terra.com.br

RESUMO

INTRODUÇÃO. O Brometo de piridostigmina tem demonstrado atividade cardíaca, ao aumentar a variabilidade da frequência cardíaca e diminuir as extrassístoles ventriculares em pacientes com insuficiência cardíaca. Como droga de potencial efeito antiarrítmico, faz-se necessário testar suas modificações nas variáveis eletrofisiológicas, passo inicial no desenvolvimento e uso das drogas com efeito antiarrítmico.

OBJETIVO. Avaliar os efeitos eletrofisiológicos da piridostigmina em pacientes com indicação prévia para realizar o procedimento.

MÉTODOS. Pacientes com indicação para estudo eletrofisiológico participaram de um estudo quase- experimento testando o uso da piridostigmina nas ações eletrofisiológicas. Os pacientes selecionados realizavam seus exames sem efeito da piridostigmina, sendo registradas as variáveis em estudo, intervalos de condução, ciclo básico, ponto de Wenckebach, períodos refratários atriais, nó atrioventricular e ventriculares. O exame era repetido após uma hora e meia do uso da droga, 45 mg de dose única de piridostigmina, e novamente eram registradas as principais variáveis do estudo.

RESULTADOS. A amostra compreendeu 15 pacientes, e as principais indicações foram síncope e palpitações. O ciclo básico obteve uma média sem o efeito da piridostigmina e após sua ação de $906 \pm 143,32\text{ms}$ vs $914 \pm 152,03\text{ms}$, $p=0,58$. A recuperação sinusal na medida de 600ms, antes e após a droga em estudo: $275,85 \pm 110\text{ms}$ vs $248,57 \pm 123,40\text{ms}$ $p=0,489$. A média do intervalo de condução AH controle e piridostigmina foi ($88,60 \pm 31\text{ms}$ vs $92,80 \pm 35\text{ms}$ $p=0,872$). A média do período refratário atrial, controle e piridostigmina, no ciclo de

600ms foi $147,08 \pm 124$ ms vs $122,83 \pm 120$ ms $p=0,478$. A média do período refratário do nó atrioventricular antes e após o uso de piridostigmina no ciclo de 600ms: ($327,69 \pm 76$ ms vs $345,38 \pm 89$ ms $p=0,06$). Por fim, a comparação entre as média do período refratário ventricular controle e piridostigmina no ciclo de 400ms foi de ($238,00 \pm 28$ ms vs $245,33 \pm 33$ ms $p=0,028$).

CONCLUSÃO. A piridostigmina não alterou consistentemente significativamente as variáveis eletrofisiológicas na amostra de pacientes estudados.

INTRODUÇÃO

A piridostigmina é um fármaco parassimpaticomimético, pois inibe a ação da acetilcolinesterase. Esta é uma enzima que degrada por hidrólise a acetilcolina na fenda sináptica. Drogas que inibem a acetilcolinesterase reduzem a degradação da acetilcolina na fenda sináptica, fazendo com que ela permaneça mais tempo ativa nas terminações nervosas.

A piridostigmina é um composto de ação reversível, de efeito proporcional à dose ingerida, que pode ser administrada por via oral e tem baixa incidência de efeitos colaterais¹

Dados prévios, avaliando voluntários normais, demonstraram redução da frequência cardíaca em repouso com piridostigmina em doses únicas². Além disso, reduz a resposta do duplo produto durante estresse mental e inibe a resposta cronotrópica ao exercício dinâmico sem reduzir a capacidade funcional³. Outro efeito da piridostigmina é a dispersão do intervalo QTc em indivíduos saudáveis.⁴ Mais recentemente, demonstrou-se redução da frequência cardíaca média e aumento da variabilidade da frequência cardíaca de 24hs com a administração da piridostigmina a curto prazo em voluntários normais.⁵ Na mesma linha de pesquisa, demonstrou-se que a administração de piridostigmina a curto prazo é segura, reduz a frequência cardíaca, aumenta a variabilidade da mesma e reduz as

extrassístoles ventriculares em pacientes estáveis com insuficiência cardíaca⁶.

Como droga parassimpaticomimética, os efeitos esperados nas células cardíacas são de diminuição do automatismo sinusal⁷, cronotropismo negativo⁸, aumento do limiar de excitabilidade cardíaca⁹, lentificação do dromotropismo, aumento do período refratário do nó atrioventricular e ventricular, mas diminuição do período refratário atrial^{10,11,12,13}.

As drogas com ação antiarrítmica costumam apresentar alterações nos períodos refratários e velocidade de condução do estímulo, o que pode desencadear bloqueios ou desenvolvimento de mecanismos de reentrada e o aparecimento de taquiarritmias. Para se ter um maior conhecimento sobre as alterações destas drogas nas propriedades eletrofisiológicas cardíacas, elas costumam ser testadas com estudo eletrofisiológico invasivo.

O sotalol, droga antiarrítmica classe III, foi testada, por exemplo, em 1981, em 15 pacientes¹⁴, e os parâmetros analisados foram FC, tempo de recuperação do nó sinusal, tempo de condução sinoatrial, período refratário atrial efetivo e funcional, ponto de Wenckebach, período refratário efetivo e funcional do nodo AV, intervalos A-H, H-V e períodos refratários ventriculares. Os achados mostraram redução da FC (16%), aumento do intervalo A-H (5%), aumento do período refratário efetivo do nó AV (26%), diminuição do ponto de Wenckebach (18%). Outra droga, recentemente avaliada, com perfil classe III, foi testada em um estudo japonês. O número de pacientes foram 6 e o estudo foi realizado antes e depois da administração da medicação. Os principais resultados de diferença

significativa foram no período refratário efetivo atrial em ciclos de 600ms (de 222 ± 19 para 250 ± 23 ms, $p=0,0009$), 400ms (de 207 ± 15 para 228 ± 15 , $p= 0,0001$)ms. Os períodos refratários efetivos ventriculares também foram prolongados em ciclos de 600ms (de 240 ± 24 ms para 268 ± 23 ms, $p=0,0001$) e 400ms (de 225 ± 22 ms para 268 ± 23 ms, $p<0,007$)¹⁵.

Em suma, a piridostigmina, bastante conhecida no uso de quadros neurológicos, tem mostrado atuação em determinadas funções cardíacas, como a variabilidade da frequência cardíaca e a incidência de extrassístoles. Como droga de potencial efeito antiarrítmico, faz-se necessário o estudo das modificações que seu uso geram nas propriedades eletrofisiológicas cardíacas, passo inicial no desenvolvimento e uso de drogas antiarrítmicas.

PACIENTES E MÉTODOS

1. Seleção da Amostra

Os pacientes foram selecionados do serviço de eletrofisiologia invasiva do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, serviço de Cardiologia e compreenderam os indivíduos com indicação do estudo por seus médicos, abrangendo diversas patologias cardíacas. Os critérios de exclusão foram bradiarritmias documentadas, gravidez, estar usando a medicação do estudo, alergia a piridostigmina, obstrução intestinal ou urinária e o uso obrigatório de isoproterenol durante o estudo eletrofisiológico. Aqueles pacientes submetidos à ablação em região próxima ao nó sinusal ou atrioventricular seria excluído. Todos os pacientes deveriam assinar o consentimento informado (em anexo).

2. Protocolo

Seguindo um protocolo aberto, quase-experimento, os pacientes elegíveis receberam 45mg de piridostigmina via oral, sendo imediatamente levados ao estudo eletrofisiológico por indicação, onde registramos as variáveis principais do estudo. Após uma hora e meia a duas horas, os pacientes eram novamente estudados, sendo anotadas as principais variáveis. Os pacientes permaneciam na sala entre as duas aferições, com punções venosas e monitorizados, aguardando o tempo de pico de ação da droga. Após o estudo eletrofisiológico, os pacientes permaneciam em repouso na sala de Recuperação por 6 horas. Após a liberação, eram orientados para seguir suas atividades usuais e se houvesse dúvidas entrar em contato.

3. Estudo Eletrofisiológico

O estudo eletrofisiológico invasivo foi realizado como de praxe pelo responsável pela realização dos exames no Hospital de Clínicas de Porto Alegre e sua equipe, já que a indicação do exame não era exclusiva para a pesquisa. Os pacientes eram convidados a participar da pesquisa e assinar o termo de consentimento, antes da realização do exame, sabendo que independentemente iriam submeter-se ao estudo eletrofisiológico.

Assepsia e tricotomia da região inguinal direita pela enfermagem, seguindo de campos esterilizados e punção de veia periférica com soro glicosado 5% para manter veia, além de Midazolan de 1 a 5mg endovenoso conforme orientação médica. Todos os pacientes eram monitorizados com um cardioversor/desfibrilador e também com o equipamento de registro eletrofisiológico intracavitário. Oxigênio suplementar por óculos nasal era usado de acordo com a oximetria. A punção da veia femoral direita com colocação de 2-3 bainhas venosas para passagem de cateteres multipolares para registros intracavitários. Foram medidos os intervalos de condução atrioventricular PA, AH, HV, tempo de recuperação corrigido do nó sinusal, ponto de Wenckebach, períodos refratários atriais, nó AV e ventriculares. Aqueles pacientes em que era imprescindível o uso do isoproterenol, foram excluídos do estudo. As medidas eletrofisiológicas eram feitas duas vezes, conforme descrito no protocolo, a primeira sem ação da medicação em estudo, enquanto a segunda medida era no pico de ação da droga.

Após o exame, os pacientes eram observados, conforme rotina do procedimento, e liberados com orientações ao seu médico assistente.

4. Piridostigmina

A piridostigmina era administrada no início do exame invasivo, a dose era de 45mg, por isso os pacientes receberam $\frac{3}{4}$ do comprimido, que eram cortados com aparelho específico. A dose mínima que provasse ter efeito foi adquirida de um estudo em voluntários sadios, já citado anteriormente^{2;3} O intervalo entre as duas medidas eletrofisiológicas foi de 1,5 – 2hs de acordo com a farmacocinética da medicação.

5. Considerações Éticas

O projeto de pesquisa foi aprovado pela comissão de ética do Grupo de Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Como se tratava de projeto que envolvia intervenção farmacológica (risco maior que mínimo), todos pacientes assinaram termo de consentimento para participarem do estudo.

6. Análise Estatística

As variáveis eletrofisiológicas foram analisadas através do teste t de Student e também para variáveis não paramétricas com o teste Wilcoxon. Os resultados foram semelhantes nos dois tratamentos estatísticos, por isso se usou com parâmetro o teste t.

Os resultados foram apresentados em forma de média com os desvios padrões das respectivas variáveis.

O tamanho da amostra foi calculado previamente embasado em estudo de mesmo objetivo¹⁵, usando a variável de período refratário ventricular com uma média de 250ms e um desvio padrão de 25ms que estimou de 8 a 14 pacientes

com erro alfa de 0,05 a 0,01, respectivamente. Decidimos por uma amostra de 15 pacientes com valores significativos com $p < 0,05$.

Resultados

1. Características da Amostra

Foram selecionados 16 pacientes, contudo um foi excluído por uso de Isoproterenol durante o exame. A tabela I descreve as características clínicas e demográficas dos quinze pacientes. Os pacientes na maior parte eram idosos, equilibrados quanto ao sexo, com indicações para o exame por síncope e palpitações, predominantemente. As patologias de base eram cardiopatia isquêmica e insuficiência cardíaca. O uso de medicações eram de acordo com determinação do médico assistente.

Tabela I - Características clínicas e demográficas

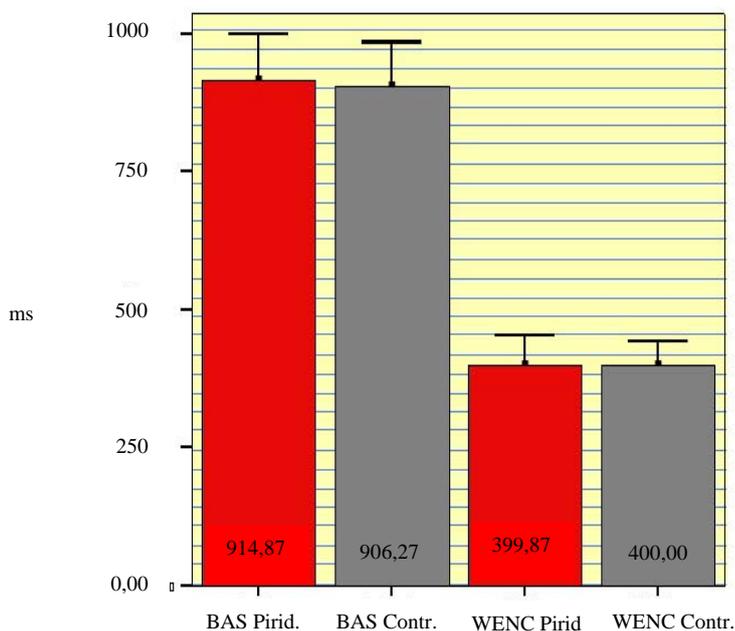
Amostra	n= 15	
Idade em anos (média)	56 anos	
Homens	8	53%
Indicação para o exame		
Síncope	9	60%
Palpitação	5	33%
Estratificação de risco de MS	1	7%
Drogas em uso		
Amiodarona	2	13%
Diuréticos	4	27%
I-ECA	7	46%
Bloq. Do cálcio	2	13%
B- Bloqueadores	4	27%
AAS	4	27%
Nitratos	1	7%
Digoxina	1	7%
Estatinas	3	20%
Doenças de base		
Cardiopatia isquêmica	4	27%
Insuficiência Cardíaca	4	27%
Cardiopatia Hipertensiva	2	13%
Ausência de Cardiopatia	7	46%
Doença de Chagas	1	7%

2.1. Ponto de Wenckebach nodal AV e ciclo básico

O ponto de Wenckebach avaliado durante a estimulação foi de $400\text{ms} \pm 78\text{ms}$ vs $398 \pm 66\text{ms}$, $p=0.94$, antes e após a medicação, respectivamente.

O ciclo básico, frequência cardíaca, obteve uma média calculada sem o efeito da piridostimina e após sua ação de, respectivamente, $906 \pm 143,32\text{ms}$ vs $914 \pm 152,03\text{ms}$, $p=0,58$.

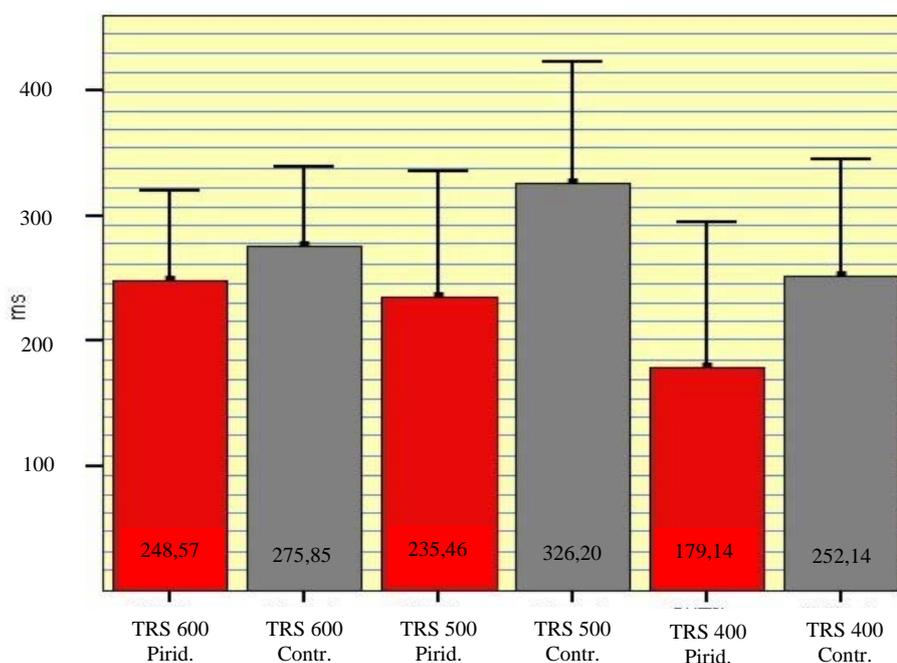
Figura 1 - Médias e Intervalo de Confiança (95%) das variáveis eletrofisiológicas: Ponto de Wenckebach e o ciclo básico



2.2. Tempo de Recuperação sinusal

A recuperação sinusal foi calculada nos ciclos de 600ms, 500ms, 400ms antes e após a droga em estudo. A média dos valores observados nas estimulações acima são, respectivamente: $275,85 \pm 110\text{ms}$ vs $248,57 \pm 110\text{ms}$, $p=0,489$; $326,20 \pm 176\text{ms}$ vs $235,46 \pm 181\text{ms}$, $p=0,003$; $252,14 \pm 161\text{ms}$ vs $179,14 \pm 100\text{ms}$, $p=0,08$.

Figura 2 - Médias e intervalos de confiança (95%) do tempo de recuperação sinusal antes e após o uso de piridostigmina

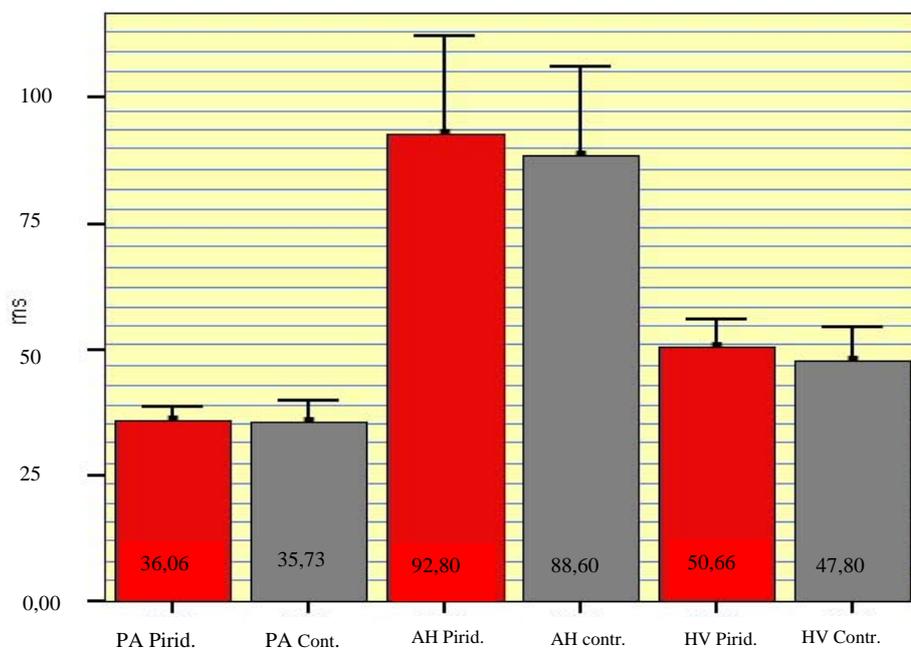


2.3. Intervalos de Condução.

Os intervalos de condução atrioventricular aferidos foram PA (representa a ativação atrial), AH (representa a condução nodal AV), HV (representa a condução do sistema His-Purkinje). Os valores encontrados estão dentro da

normalidade de indivíduos normais. As médias dos intervalos de condução encontradas antes e após o uso da piridostigmina foram: PA ($35,73 \pm 7\text{ms}$ vs $36,06 \pm 5\text{ms}$, $p=0,872$); o intervalo AH ($88,60 \pm 31\text{ms}$ vs $92,80 \pm 35\text{ms}$, $p= 0,872$), e o intervalo HV ($47,80 \pm 12\text{ms}$ vs $50,66 \pm 9\text{ms}$, $p=0,10$).

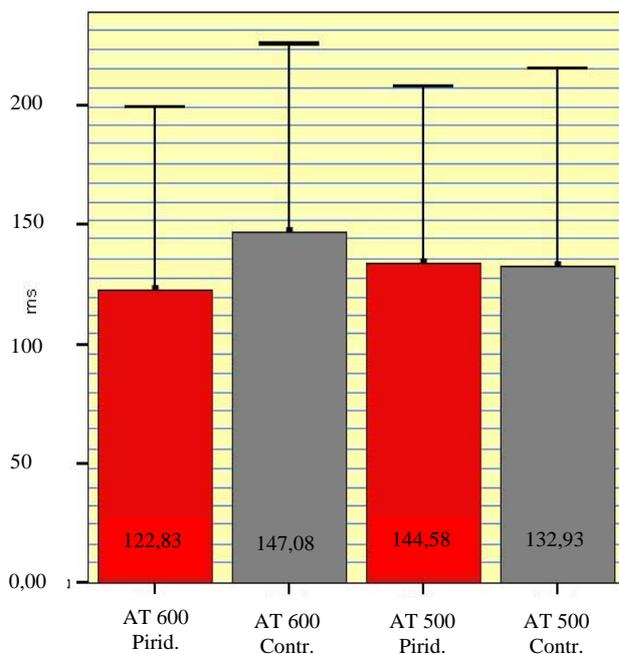
Figura 3 - Médias e Intervalo de Confiança (95%) das Conduções Atrioventriculares antes e após o uso de piridostigmina



2.4. Refratariedade atrial, do nó AV e ventricular

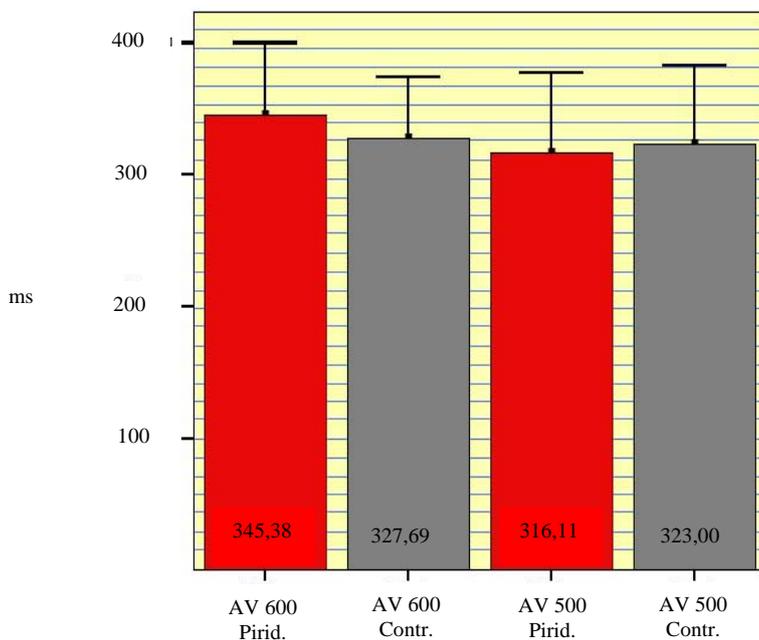
A média dos períodos refratários atriais, avaliados antes e após uso da piridostigmina, no ciclo de 600ms foram: ($147,08 \pm 124$ ms vs $122,83 \pm 120$ ms, $p=0,478$), no ciclo de 500ms ($132,83 \pm 130$ ms vs $144,58 \pm 121$ ms, $p= 0,489$).

Figura 4 - Médias e Intervalos de Confiança (95%) do período refratário atrial antes e após uso da piridostigmina



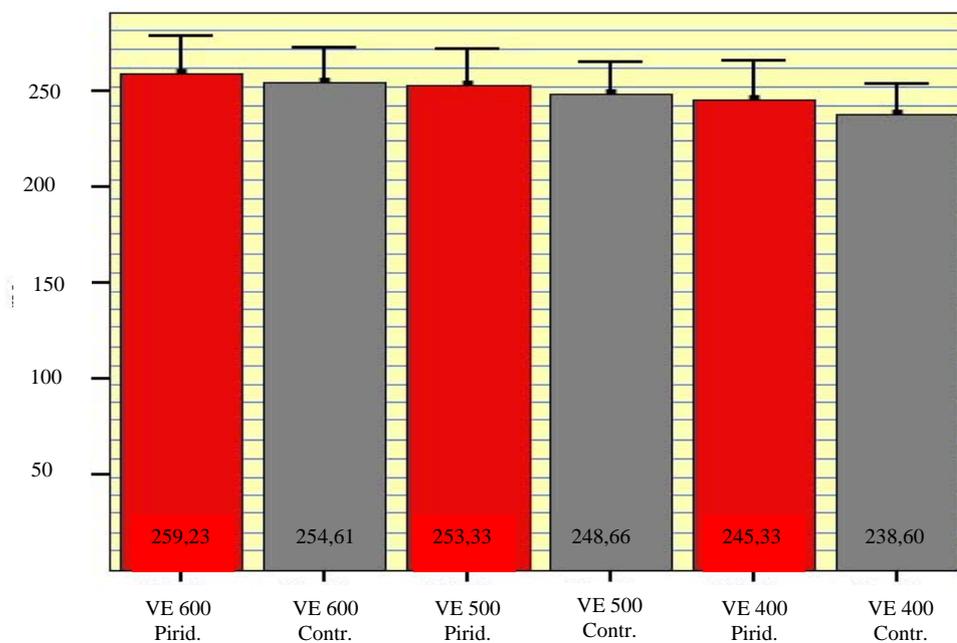
A média dos períodos refratários do nó atrioventricular avaliado antes e após o uso de piridostigmina nos ciclos de 600ms e 500ms são, respectivamente: ($327,69 \pm 76$ ms vs $345,38 \pm 89$ ms, $p=0,06$; $323 \pm 62,27$ vs 316 ± 79 ms, $p= 0,152$).

Figura 5 - Média e Intervalos de Confiança (95%) do período refratário do nó Atrioventricular



Por fim, a comparação entre as médias dos períodos refratários ventriculares antes e após o uso da medicação em estudo, nos ciclos de 600ms foi ($254,61 \pm 30\text{ms}$ vs $259,23 \pm 32\text{ms}$, $p=0,255$), nos ciclos de 500ms ($248,66 \pm 29\text{ms}$ vs $253,33 \pm 35\text{ms}$, $p= 0,150$) e nos ciclos de 400ms ($238,00 \pm 28\text{ms}$ vs $245,33 \pm 33\text{ms}$, $p=0,028$).

Figura 6 - Médias e Intervalos de Confiança (95%) dos períodos refratários ventriculares antes e após o uso da piridostigmina



3. Segurança e Tolerabilidade

Não houve registro de eventos adversos durante o exame e no período de observação na sala de recuperação. Através de anamnese, os pacientes toleraram bem a medicação na dosagem proposta.

DISCUSSÃO

No período de observação, na sala de recuperação, os pacientes não relataram sintomas de possíveis efeitos adversos da medicação. Este achado era esperado já que a droga nesta dosagem é segura e tolerada conforme estudos anteriores.

O EEF não apresentou complicações, o que era esperado já que nos laboratórios a incidência é menor que 1%, e as complicações mais prevalentes estão relacionadas às punções venosas.¹⁶

O ciclo básico dos pacientes não mostrou diferença com uso da droga. Como parassimpaticomimético, esperar-se-ia uma ação cronotrópica negativa. Poderia especular que a dosagem não foi forte o suficiente para mecanismo de ação da medicação, mas baseado em dois trabalhos prévios com indivíduos normais, citados anteriormente, a dose oral foi de 45mg e ocasionou diminuição do ciclo básico. Assim, fica improvável que a dosagem fosse ineficiente. Uma possível explicação para este fato reside no fato de que os pacientes estavam sedados durante o exame, ou seja, com baixa atividade simpática já nas medidas iniciais. Neste caso, a magnitude do efeito do parassimpaticomimético pode ter sido reduzida. Outra possível explicação é de que a amostra deste estudo compreendeu cardiopatas em uso de medicação, ao contrário dos estudos em indivíduos normais.

Em relação ao tempo de recuperação do nó sinusal, não se observou diferença nos ciclos de 600 e 400ms. Na medida com 500ms, observou-se uma diminuição deste tempo. É difícil atribuir este efeito à ação da droga, já que esta,

por ser colinomimética, tenderia a diminuir o automatismo atrial, o que deveria gerar aumento do tempo de recuperação. Além disso, a medida de 400ms não foi significativa, embora com tendência; como tal medida é mais agressiva em relação à de 500ms, esperar-se-ia um resultado mais significativo. Pode-se aventar a possibilidade de que esta diminuição tenha se devido a bloqueio de entrada no nó sinusal, hipótese que perde seu força na medida em que tal fato não foi observado nas medidas com ciclo básico de 400ms.

Em relação ao período refratário atrial não se observou diferença significativa. O sistema parassimpático tem efeito de diminuição na refratariedade atrial, assim poder-se-ia observar uma diminuição do tempo nos ciclos analisados. Ao analisarmos as médias individuais, notamos que a medida desta variável ficou prejudicada pelo número de médias menores que 200ms (5 dos 15 pacientes), já que no estudo eletrofisiológico é de praxe não diminuir o intervalo de acoplamento do extra-estímulo abaixo de 200ms, pelo risco de indução de taquiarritmias supraventriculares.

Na análise do ponto de Wenckebach, não se demonstrou alteração significativa, o mesmo se observando em relação aos intervalos de condução atrioventriculares. Dentre os intervalos de condução, o AH era o candidato a uma diferença pelo uso da medicação, mas não houve significância estatística. O parassimpático apresenta grande influência na condução atrioventricular, principalmente no nó atrioventricular. Apesar disso, o período refratário do nó atrioventricular não demonstrou alteração com o uso da droga. As explicações mais prováveis são as mesmas já descritas em relação à avaliação do nó sinusal: sedação e uso de drogas, especialmente com ação beta-bloqueadora.

Os ventrículos apresentam poucas fibras parassimpáticas, sendo influenciado mais indireta do que diretamente pelo parassimpático. Estimulação colinérgica aumenta o período refratário ventricular; neste estudo houve aumento do na medida de 400ms. Este achado não se repetiu em ciclos de estimulação maiores, como de 500ms e 600ms. Sendo este dado correto, poder-se-ia esperar um efeito antiarrítmico maior da piridostigmina sob frequência cardíacas mais elevadas. No entanto, a alteração absoluta dos valores é muito pequena para que se possa tirar conclusões clínicas.

Limitações do estudo

O presente estudo avaliou os possíveis mecanismos antiarrítmicos da piridostigmina em humanos, através de estudo eletrofisiológico. Nesta amostra de pacientes selecionados com indicação de estudo eletrofisiológico invasivo, não se encontraram alterações eletrofisiológicas que expliquem os efeitos estimulação colinérgica encontrados em outros trabalhos. Deve-se ressaltar o fato de que estes pacientes estavam sedados e em uso de suas medicações, incluindo bloqueadores simpáticos, o que pode ter alterado o efeito da piridostigmina.

Em relação a um possível efeito antiarrítmico descrito em trabalhos anteriores sob a forma de diminuição das extrassístoles, os resultados do presente trabalho não são em nada conflitantes. É importante registrar que o estudo eletrofisiológico gera os estímulos para avaliarmos as variáveis em estudo, por isso não temos como saber da influência da medicação na geração das extrassístoles. Assim, isto seria um fator limitante, pois caso a geração do estímulo fosse alterada pela medicação, demonstraria efeitos antiarrítmicos que não foram constatados neste estudo.

O tamanho da amostra calculado previamente por estudos de mesmos objetivos nos dirigiu de 8 a 14 pacientes para um alfa de 0,05 e 0,01 respectivamente. O estudo foi conduzido com 15 pacientes. Mesmo assim, não conseguimos demonstrar significância estatística consistente nas variáveis estudadas. Por ser esta uma população diferente daquelas previamente estudadas, o cálculo do tamanho amostral pode ter subestimado o real número de pacientes necessários.

CONCLUSÕES

1. A piridostigmina não alterou consistentemente significativamente as variáveis eletrofisiológicas na amostra de pacientes estudados
2. O uso via oral de 45mg de piridostigmina foi bem tolerado, sem se observar qualquer para-efeito agudo significativo.

REFERÊNCIAS

1. Taylor P. Anticholinesterase agents. In: Hardman JG, Limbird LE, eds. Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics. New York, McGraw-Hill 1996: 161-176.
2. Nóbrega ACL, Carvalho ACG, Bastos BG. Resting and reflex heart rate responses during cholinergic stimulation with pyridostigmine: homodynamic and echocardiographic analysis in healthy subjects. Arq Bras Cardiol 1999; 72: 297-306.
3. Serra SM, Costa RV, Bastos BG, et al. Cardiopulmonary exercise testing during cholinergic stimulation with single dose of pyridostigmine in healthy subjects. Arq Bras Cardiol 2001; 76: 279-284.
4. Castro RR, Serra SM, Nóbrega AC. Reduction of QTc interval dispersion: potential mechanism of cardiac protection of pyridostigmine bromide. Arq Bras Cardiol 2000; 75:205-213.
5. Nóbrega ACL, Reis AF, Moraes RS, et al. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigmine in healthy subjects. Clin Auton Research 2001; 11:11-17.
6. Behling A, Moraes RS, Rohde LE. Cholinergic Stimulation with Pyridostigmine Reduces Ventricular Arrhythmia and Enhances Heart Rate Variability in Heart Failure. Porto Alegre and Niteroi, Brasil.
7. Wit AL. Patterns of atrioventricular conduction in the human heart. Circ Res 1970; 27: 345.

8. Levy MN, Zieske H. Autonomic control of cardiac pacemaker activity and atrioventricular transmission. *J Appl Physiol* 1969; 27: 465..
9. Markel ML et al: Parasympathetic and sympathetic alterations of Mobitz type II heart block. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11: 271,
10. Prystowsky EN. Enhanced parasympathetic tone shortens atrial refractoriness in man. *Am J Cardiol* 1983, 51: 96
11. Warner MR, Zipes DP. Vagal control of myocardial refractoriness. In Levy MN, Sartz PJ (eds). *Vagal control of the heart: Experimental basis and clinical implications*. Armonk, NY, Futura Publishing 1994:261-275
12. Prystowsky EN. Effect of autonomic blockade on ventricular refractoriness and atrioventricular nodal conduction in humans. *Circ Res* 1981: 511.
13. Rahilly GT. Autonomic blockade in patients with normal and abnormal atrioventricular nodal function. *Am J Cardiol* 1982;49: 1998.
14. Clementy J, Falquier JF, Danis C, et al. Electrophysiological properties of acute intravenous sotalol in man. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1981;74 (9):1089-97.
15. Naitoh N, Taneda K, Tagawa M, et al. Electrophysiologic effects of intravenous MS-551, a novel class III antiarrhythmic agent, on human atrium and ventricle. *Jpn Heart J* 1998;39 (3): 297-305.
16. Zain B, Zain S, Garan H. Invasive Cardiac Electrophysiology Studies. In: Podrid PJ, Kowey PR. *Assesment and Manegement of Cardiac Arrhytmias*. Baltimore: Williams & Wilkins 1995: p 258.

ELECTROPHYSIOLOGICAL ACTIONS OF PYRIDOSTIGMINE IN HUMANS**ALEXANDRE LIBERMAN****LEANDRO ZIMERMAN**

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Cardiologia e Ciências
Cardiovasculares, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande
do Sul (UFRGS)

CORRESPONDENCE ADDRESS:

Alexandre Liberman

Rua Venâncio Aires 402/702

Porto Alegre, RS, Brasil CEP:90000

phone: (51) 3225 4639

e-mail: Aliberman@terra.com.br

LIST OF ABBREVIATIONS

NO AV	ATRIOVENTRICULAR NODE
AH	ATRIUM-HIS INTERVAL
HV	HIS-VENTRICLE INTERVAL
FC	HEART RATE
PA	SINO-ATRIAL INTERVAL
SD	SUDDEN DEATH
I-ECA	CONVERTER ENZYME INHIBITOR
Bloq.	BLOCKERS
B	BETA
Bas	BASIC
Pirid	PYRIDOSTIGMINE
Wenc.	WENCKEBACH
Contr.	CONTROL
TRS	SINUSAL RECOVERY TIME
AT	ATRIAL REFRACTORY PERIOD
AV	REFRACTORY PERIOD OF THE ATRIOVENTRICULAR
NODE	

ABSTRACT

INTRODUCTION: Pyridostigmine bromide has demonstrated cardiac activity when increasing heart rate variability and diminishing ventricular arrhythmia in heart failure patients. As a drug of potential antiarrhythmic effect, it is necessary to test its modifications in electrophysiological parameters, an initial step in the development and use of antiarrhythmic drugs.

OBJECTIVE: To evaluate the electrophysiological effect of pyridostigmine in patients with previous indication for electrophysiological study.

METHODS: Patients with indication for electrophysiological study participated in an experiment testing the effects of pyridostigmine in electrophysiological action. Selected patients were subjected to examination without effect of pyridostigmine, and the following study variables were recorded: conduction intervals, basic cycle, Wenckebach point, atrial, AV nodal and ventricular refractory periods. Examination was repeated after one and a half hour of the drug use, 45-mg single dose of pyridostigmine, and parameters were remeasured.

RESULTS: The sample comprised 15 patients, and main indications were syncope and palpitations. Basic cycle length before and after pyridostigmine effect was 906 ± 143 ms vs 914 ± 152 ms, $p=0.58$. Sinus node recovery time stimulated at 600ms was 275 ± 110 ms vs 248 ± 123 ms, $p=0.489$. AH interval before and after drug use was 88 ± 31 ms vs 92 ± 35 ms, $p=0.872$. Atrial refractory period measured at 600ms cycle was 147 ± 124 ms vs. 122 ± 120 ms, $p=0.478$. Atrioventricular nodal refractory period at 600ms cycle

was 327 ± 76 ms vs 345 ± 89 ms, $p=0,06$. Ventricular refractory period at 400 ms cycle was 238 ± 28 ms vs 245 ± 33 ms, $p=0.028$.

CONCLUSION: Pyridostigmine did not modify significantly the electrophysiological parameters evaluated in this sample of patients in a consistent fashion.

INTRODUCTION

Pyridostigmine is a parasympathomimetic drug, since it inhibits the action of acetylcholinesterase. This is an enzyme that breaks down acetylcholin in the synaptic cleft by hydrolysis. Drugs that inhibit acetylcholinesterase reduce acetylcholin breakdown in the synaptic cleft, leading it to remain active for a longer time in nervous terminations.

Pyridostigmine is a compound of reversible action, with an effect proportional to the dose taken, which can be administered orally, having low incidence of side effects¹.

Previous data assessing normal volunteers demonstrated a heart rate reduction at rest with single-dose pyridostigmine². Also, it reduces the response of the dual product during mental stress and inhibits the chronotropic response to dynamic exercise without decreasing functional capacity³. Another effect of pyridostigmine is the dispersion of the QTc interval in healthy adults⁴. More recently, a reduction in mean heart rate and increase in 24-h heart rate variability were demonstrated with short-term administration of pyridostigmine to normal volunteers⁵. Following the same line of research, it was demonstrated that short-term administration of pyridostigmine is safe, reduces the heart rate, increases heart rate variability and reduces ventricular arrhythmia in stable heart failure patients⁶.

As a parasympathomimetic drug, the expected effects on heart cells are those of decrease in sinus automatism⁷, negative chronotropism⁸, increase in the heart's

excitability threshold⁹, slowing down of dromotropism, increase in atrioventricular and ventricular nodal refractory periods, but decrease in the atrial refractory period^{10,11,12,13}.

Drugs with antiarrhythmic action usually show alterations in the refractory periods and speed of stimulus conduction, which can trigger blockades or development of reentry mechanisms and emergence of tachyarrhythmias. In order to learn more about alterations to cardiac electrophysiological properties by these drugs, they're usually tested through an invasive electrophysiological study.

Solatol, a class III antiarrhythmic drug, was tested in 1981 in 15 patients¹⁴, and the parameters assessed were heart rate, sinus node recovery time, sinuatrial conduction time, atrial functional and effective refractory period, Wenckebach point, AV nodal functional and effective refractory period, A-H and H-V intervals, and ventricular refractory period.

The findings show heart rate reduction (16%), increase in the A-H interval (5%), increase in the AV nodal effective refractory period (26%), and reduction in the Wenckebach point (18%). Another recently evaluated class III drug was tested in a Japanese trial. The number of patients was 6, and the study was carried out before and after the drug administration. Major significant differences were found in the atrial effective refractory period in cycles of 600 ms (222 ± 19 ms to 250 ± 23 ms, $p=0.0009$), and 400 ms (207 ± 15 to 228 ± 15 , $p= 0.0001$). The ventricular effective refractory periods were also extended in cycles of 600 ms (240 ± 24 ms to 268 ± 23 ms, $p=0.0001$) and 400 ms (225 ± 22 ms to 268 ± 23 ms, $p<0.007$)¹⁵.

In summary, pyridostigmine, with widely known use in neurologic conditions, has shown to affect certain cardiac functions, such as heart rate variability and incidence of extrasystoles. As a drug of potential antiarrhythmic effect, it's

necessary to study the changes elicited by its use to the heart's electrophysiological properties, an initial step into the development and use of antiarrhythmic drugs.

PATIENTS AND METHODS

Sample selection

The patients were selected from the invasive electrophysiology service of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Cardiology service, comprising individuals with indication for study by their doctors, and encompassing several heart pathologies. Exclusion criteria were documented bradyarrhythmias, pregnancy, current use of the study medication, allergy to pyridostigmine, intestinal or urinary occlusion, and mandatory use of isoproterenol during the electrophysiological study. Patients subjected to ablation at a site near the sinus or atrioventricular node would be excluded. All patients had to sign an informed consent (attached).

Protocol

Following a quasi-experimental, open protocol, eligible patients received 45-mg oral pyridostigmine, and were immediately referred to the electrophysiological study by indication, where the main variables of the study were recorded. After one hour and a half to two hours, the patients were studied once again, with the main variables being noted. The patients remained at the room between the two tests, with venous punctures in place and being monitored while waiting for the drug action to reach its peak. After the electrophysiological study, the patients

remained resting at the recovery room for 6 h. After their dismissal, they were advised to go on with their daily activities and get in touch if had any doubt.

Electrophysiological study

The invasive electrophysiological study was carried out as usual by Hospital de Clínicas examiners, since the exam indication wasn't exclusive for the research. The patients were asked to participate in the study and sign the consent form prior to the exam, being aware they'd be subjected to the electrophysiological study anyway.

The asepsis and trichotomy of the right inguinal region was performed by nurses, followed by sterilized fields and peripheral vein puncture with 5% dextrose solution to maintain the vein, in addition to 1-5 mg intravenous Midazolam according to medical instruction. All patients were monitored with a cardioverter/ defibrillator and also with an intracavity electrophysiological reading equipment. Supplementary oxygen through nasal cannulas was used according to oximetry. Right femoral vein puncture with placement of 2-3 venous sheaths was performed for passage of multipolar catheters for intracavity recordings. The PA, AH, HV atrioventricular conduction intervals, corrected recovery time of sinus node, Wenckbach point, and the AV, ventricular nodal and atrial refractory periods were measured. Those patients for whom the use of isoproterenol was indispensable were excluded from the study. The electrophysiological measurements were performed twice, as described in the protocol; the first measurement was taken with no action from the study medication, while the second one was taken at the peak effect of the drug.

After the exam, the patients were observed according to standard procedure and discharged with advice to their health-care provider.

Pyridostigmine

Pyridostigmine was administered at the beginning of the invasive exam; as the dose was of 45 mg, the patients received $\frac{3}{4}$ of the tablet, which was sliced with a specific device. The minimum dose that proved to have an effect was achieved from a previously mentioned study on healthy volunteers^{2,3}. The interval between the two electrophysiological measurements was 1.5-2 h according to the medication pharmacokinetics.

Ethic considerations

The study project was approved by the ethics committee of Hospital de Clínicas de Porto Alegre Research Group. As this was a project involving pharmacological intervention (risk greater than the minimum), all patients signed a consent form to participate in the study.

Statistical analysis

The electrophysiological variables were analyzed by Student's t test, while non-parametric variables were analyzed with Wilcoxon's test. The results were similar in both statistical treatments, hence the t test was used as a parameter.

The results were shown as means with standard deviations of the respective variables.

The sample size calculation was previously based on a study with the same objective¹⁵, using the ventricular refractory period variable with a 250 ms mean and a 25 ms standard deviation, which led to an estimate of 8 to 14 patients with alpha error at 0.05 to 0.01, respectively. We decided for a 15-patient sample with significant values at $p < 0.05$.

RESULTS

Sample characteristics

16 patients were selected; however, one individual was excluded due to the use of isoproterenol at the exam. Table 1 describes the clinical and demographic characteristics of the 15 patients. Most patients were elderly, in a similar number with respect to gender, mostly with indications for syncope and palpitation tests. Underlying pathologies were ischemic cardiopathy and heart failure. The use of medications was carried out as determined by the assisting doctor.

Table 1 – Clinical and demographic characteristics

Sample	n= 15	
Age in years (mean)	56 years	
Men	8	53%
Indication for exam		
Syncope	9	60%
Palpitation	5	33%
SD risk stratification	1	7%
Drugs used		
Amiodarone	2	13%
Diuretics	4	27%

I-ECA	7	46%
Calcium blocker	2	13%
B- Blockers	4	27%
AAS	4	27%
Nitrates	1	7%
Digoxin	1	7%
Statins	3	20%
Underlying diseases		
Ischemic cardiopathy	4	27%
Heart failure	4	27%
Hypertensive cardiopathy	2	13%
Absence of cardiopathy	7	46%
Chagas disease	1	7%

electrophysiological variables

Wenckebach point, AV node and basic cycle

The Wenckebach point evaluated during the stimulation was 400 ± 78 ms vs 398 ± 66 ms, $p=0.94$, before and after the medication, respectively.

The basic cycle, heart rate, achieved a mean calculated without the effect of pyridostigmine and after its action of 906 ± 143 ms vs 914 ± 152 ms, respectively, $p=0.58$.

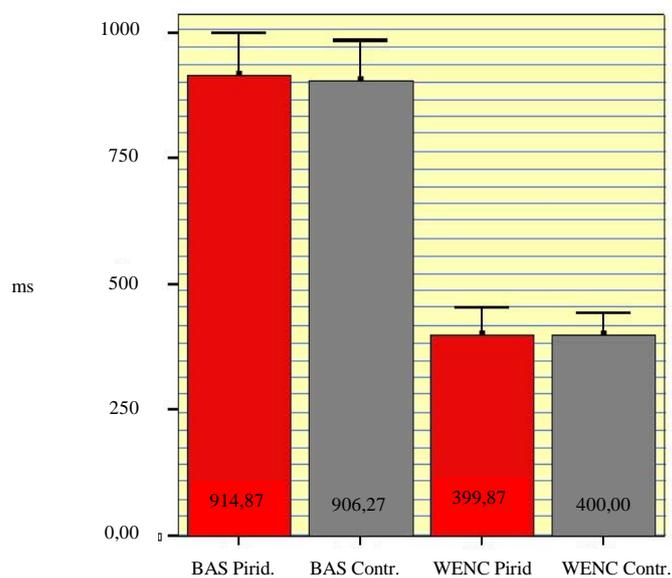


Figure 1 - Means and confidence intervals (95%) of electrophysiological variables:
Wenckebach point and basic cycle length

Sinus node recovery time

Sinus node recovery was calculated in the cycles of 600ms, 500ms, 400ms before and after the study drug. The mean values observed in the stimulations above are, respectively 750 ± 110 ms vs 248 ± 123 ms, $p=0.489$; 326 ± 176 ms vs 235 ± 181 ms, $p=0.003$; 252 ± 161 ms vs 179 ± 100 ms, $p=0.08$.

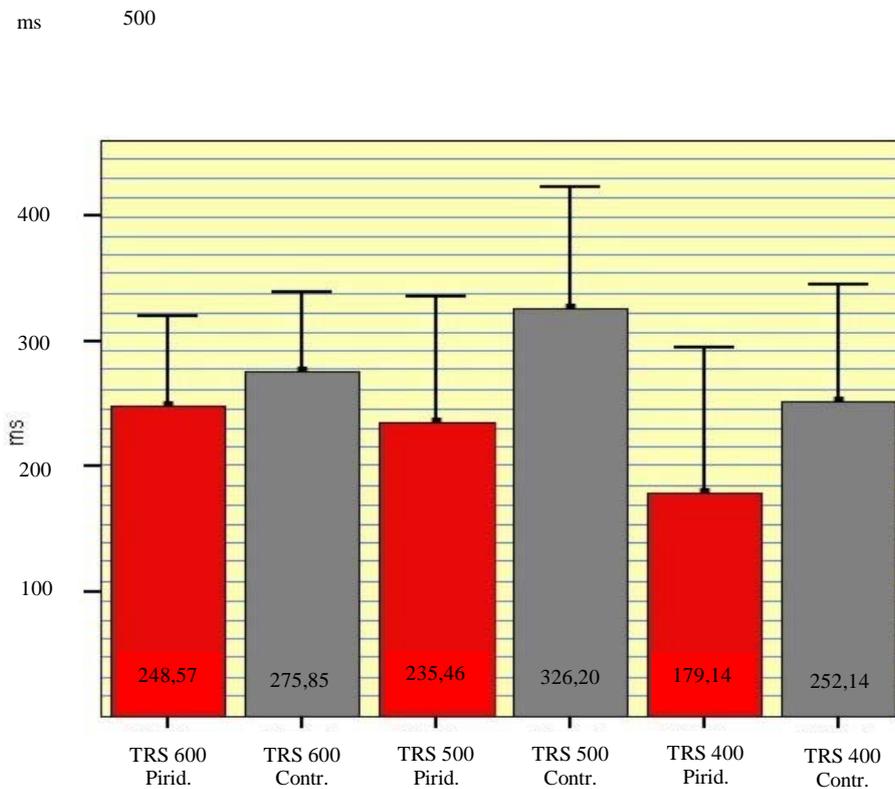


Figure 2 - Means and confidence intervals (95%) of sinus node recovery time before and after the use of pyridostigmine.

Conduction intervals

Atrioventricular conduction intervals verified were PA (atrial activation), AH (AV nodal conduction), HV (His-Purkinje conduction system). The values found are within the normality of normal individuals. The mean values of the conduction intervals found before and after the use of pyridostigmine were: PA(36 ± 7 ms vs 36 ± 5 ms, $p=0.872$); AH interval (88 ± 31 ms vs 93 ± 35 ms, $p= 0.872$), and HV interval (48 ± 12 ms vs 50 ± 9 ms, $p=0.10$).

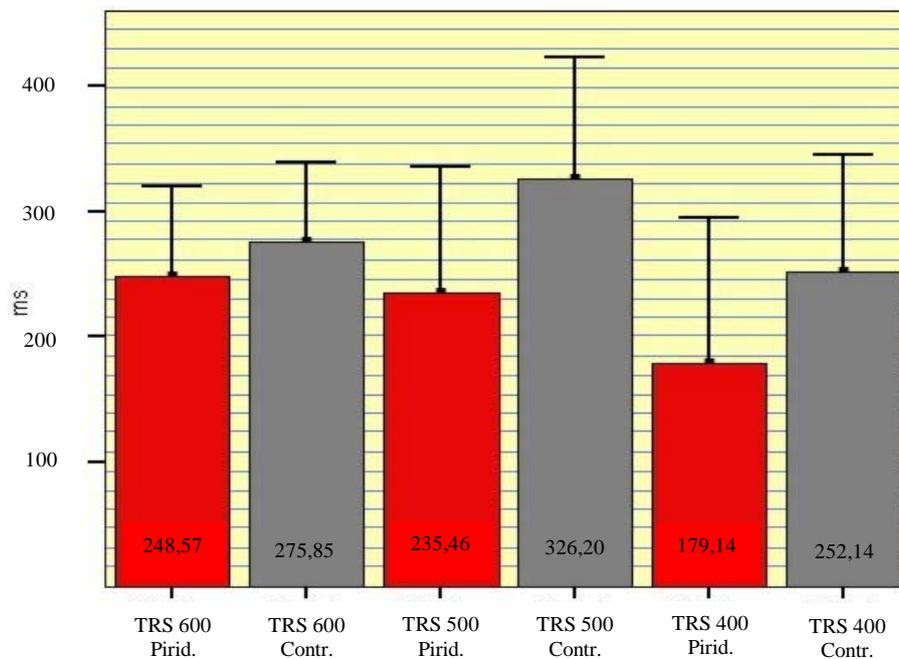


Figure 3 - Means and confidence interval (95%) of atrioventricular conduction intervals before and after the use of pyridostigmine.

AV, ventricular node, atrial refractoriness

The mean values of atrial refractory periods, assessed before and after the use of pyridostigmine, in the cycle of 600 ms were (147 ± 124 ms vs 123 ± 120 ms, $p=0.478$); and in the cycle of 500ms (133 ± 130 ms vs 145 ± 121 ms $p=0.489$).

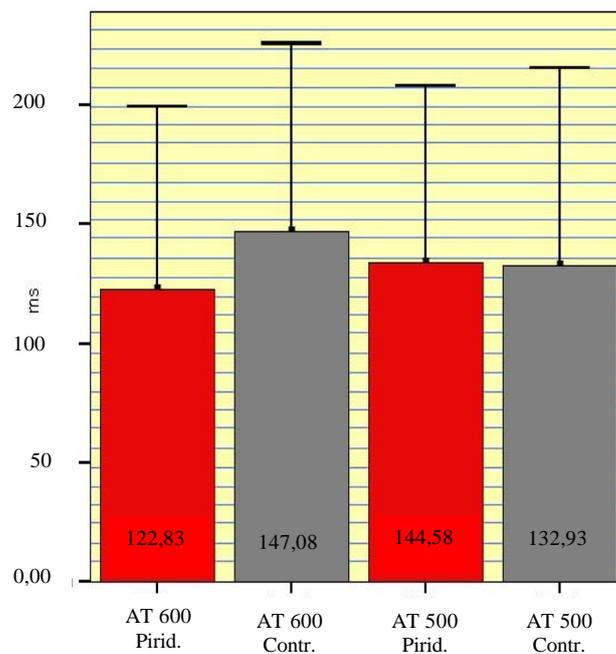
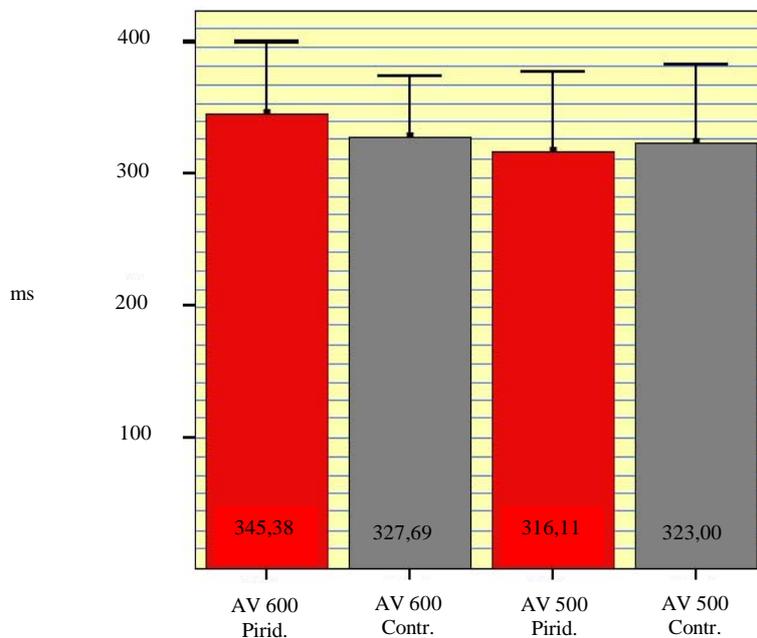


Figure 4 - Means and confidence intervals (95%) of atrial refractory period before and after the use of pyridostigmine.



The mean values of the atrioventricular nodal refractory periods before and after the use of pyridostigmine in the 600 ms and 500 ms cycles are, respectively: (327 ± 76 ms vs 345 ± 89 ms, $p=0.06$; 323 ± 62 vs 316 ± 79 ms, $p= 0.152$).

Figure 5 - Mean and confidence intervals (95%) of the atrioventricular nodal refractory period

Finally, the comparison between the means of ventricular refractory periods before and after the use of the study medication in the cycles of 600 ms was (254 ± 30 ms vs 259 ± 32 ms, $p=0.255$), in the cycles of 500 ms (248 ± 29 ms vs 253 ± 35 ms, $p= 0.150$), and in the cycles of 400 ms (238 ± 28 ms vs 245 ± 33 ms, $p=0.028$).

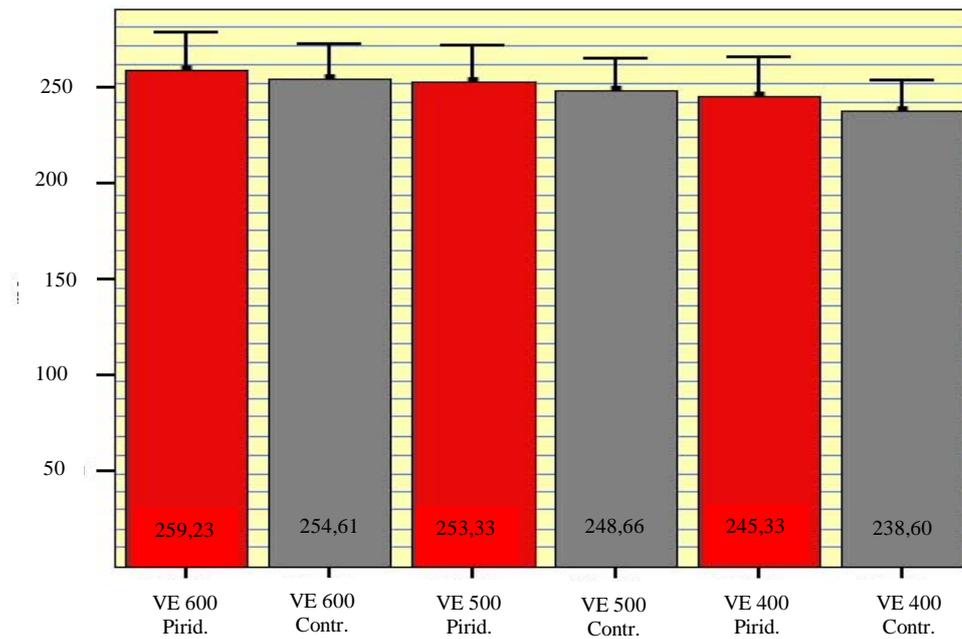


Figure 6 - Means and confidence intervals (95%) of ventricular refractory periods before and after the use of pyridostigmine.

Safety and tolerability

No adverse event was noted at the exam and observation period in the recovery room. Through anamnesis the patients tolerated well the medication at the proposed dosage.

DISCUSSION

In the period of observation at the recovery room, the patients didn't report symptoms of possible adverse effects from the medication. This finding was expected since this dosage of the drug is safe and tolerated according to previous studies.

The electrophysiological study didn't show complications, which was expected since in reference laboratories the incidence is lower than 1%, and the most prevalent complications are related to venous punctures¹⁶.

The patients' basic cycle length didn't present any difference with the drug use. For being a parasympathomimetic agent, a negative chronotropic action was expected. It could be speculated that the dosage wasn't strong enough for the action mechanism of the drug, but, based on two previously mentioned studies with normal individuals, the oral dose was established at 45 mg, and it caused a reduction in the basic cycle length. Thus, it's unlikely that the dosage was ineffective. A possible explanation for this relies on the fact that the patients were sedated during the exam, that is, they had a low sympathetic activity already at the early measurements. In this case, the magnitude of the effect from the parasympathomimetic agent may have been reduced. Another possible explanation is that this study sample included cardiopathy patients using medication, unlike those studies on normal subjects.

As for the sinus node recovery time, no difference was observed in the 600 ms and 400 ms cycles. In the measurement at 500 ms, a shortening of this time was observed. It's hard to ascribe this effect to the drug action, as this, for being cholinomimetic, would tend to decrease the atrial automatism, which would result

in a longer recovery time. Besides this, the 400 ms measurement was not significant, albeit exhibiting a tendency. As this measurement is more aggressive in comparison with the 500 ms one, a more significant result was expected. We can speculate about the possibility that such decrease is due to the entrance block to the sinus node, a hypothesis that is proven weak, as this fact wasn't observed at the 400 ms basic cycle measurements.

As for the atrial refractory period, no significant difference was observed. The parasympathetic system has an effect of reduction on the atrial refractoriness; therefore, a reduction in the length of the analyzed cycles could be observed. When we analyze individual means, we note that the measurement of this variable was impaired by the number of means lower than 200 ms (5 of the 15 patients), since it's customary not to lower the coupling interval of extra-stimulus below 200 ms in the electrophysiological test due to the risk of inducing supraventricular tachyarrhythmias.

In the analysis of the Wenckebach point, no significant change was demonstrated, the same was observed for the atrioventricular conduction intervals. Among conduction intervals, AH was likely to reveal a difference due to the use of the medication, but no statistic significance was found. The parasympathetic agent presents great influence over the atrioventricular conduction, most notably in the atrioventricular node. In spite of this, the AV nodal refractory period didn't demonstrate any change with the drug. The most likely explanations are the same previously described with respect to the sinus node evaluation: sedation and use of drugs, especially those with beta-blocking action.

The ventricles have few parasympathetic fibers, being influenced more indirectly than directly by the parasympathetic agent. The cholinergic stimulation increases

the ventricular refractory period; in this study, there was an increase at the 400 ms measurement, even though this was low in absolute values. This finding wasn't observed again in longer cycles of stimulation, such as 500 ms and 600 ms. If these data are correct, a greater antiarrhythmic effect could be expected from pyridostigmine at higher heart rates. However, the absolute change of the values is too small for us to draw clinical conclusions.

Study limitations

The present study evaluated the possible antiarrhythmic mechanisms of pyridostigmine in humans through an electrophysiological study. In this sample of patients selected with indication of invasive electrophysiological study, no electrophysiological changes were found that could account for the effects of cholinergic stimulation found in other studies. We must stress the fact that these patients were sedated and taking medications, including sympathetic blockers, which might have changed the effect of pyridostigmine.

Regarding a possible antiarrhythmic effect described in previous studies as a decrease in extrasystoles, the results of the present study aren't in disagreement at all. We must point out that the electrophysiological study generates stimuli so that we can assess the variables under study, hence we can't afford elucidating the influence of the medication on the generation of extrasystoles. Consequently, this is a limiting factor, since, if the stimulus generation were altered by the drug, it would demonstrate antiarrhythmic effects that weren't observed in this study.

The sample size previously calculated by studies with the same goal suggested 8 to 14 patients for alpha values of 0.05 and 0.01, respectively. The study was conducted with 15 patients. Nevertheless, we couldn't demonstrate a consistent

statistic significance in the variables studied. As this population was different from those previously studied, the calculation of sample size may have underestimated the actual number of patients needed.

CONCLUSIONS

1. Pyridostigmine didn't change significantly the electrophysiological variables in a consistent fashion in the sample of patients studied.
2. The use of 45mg oral pyridostigmine was well tolerated, without any significant acute para-effect observed.

REFERENCES

17. Taylor P. Anticholinesterase agents. In: Hardman JG, Limbird LE, eds. Goodman and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics. New York, McGraw-Hill 1996: 161.
18. Nóbrega ACL, Carvalho ACG, Bastos BG. Resting and reflex heart rate responses during cholinergic stimulation with pyridostigmine: homodynamic and echocardiographic analysis in healthy subjects. Arq Bras Cardiol 1999; 72: 297.
19. Serra SM, Costa RV, Bastos BG, et al. Cardiopulmonary exercise testing during cholinergic stimulation with single dose of pyridostigmine in healthy subjects. Arq Bras Cardiol 2001; 76: 279.
20. Castro RR, Serra SM, Nóbrega AC. Reduction of QTc interval dispersion: potential mechanism of cardiac protection of pyridostigmine bromide. Arq Bras Cardiol 2000; 75:205.
21. Nóbrega ACL, Reis AF, Moraes RS, et al. Enhancement of heart rate variability by cholinergic stimulation with pyridostigmine in healthy subjects. Clin Auton Research 2001; 11:11.

22. Behling A, Moraes RS, Rohde LE. Cholinergic Stimulation with Pyridostigmine Reduces Ventricular Arrhythmia and Enhances Heart Rate Variability in Heart Failure. *Am J Heart* 2003 (no prelo).
23. Wit AL. Patterns of atrioventricular conduction in the human heart. *Circ Res* 1970; 27: 345.
24. Levy MN, Zieske H. Autonomic control of cardiac pacemaker activity and atrioventricular transmission. *J Appl Physiol* 1969; 27: 465..
25. Markel ML et al: Parasympathetic and sympathetic alterations of Mobitz type II heart block. *J Am Coll Cardiol* 1988; 11: 271,
26. Prystowsky EN. Enhanced parasympathetic tone shortens atrial refractoriness in man. *Am J Cardiol* 1983, 51: 96
27. Warner MR, Zipes DP. Vagal control of myocardial refractoriness. In Levy MN, Scharz PJ (eds). *Vagal control of the heart: Experimental basis and clinical implications*. Armonk, NY, Futura Publishing 1994:261
28. Prystowsky EN. Effect of autonomic blockade on ventricular refractoriness and atrioventricular nodal conduction in humans. *Circ Res* 1981: 511.
29. Rahillilly GT. Autonomic blockade in patients with normal and abnormal atrioventricular nodal function. *Am J Cardiol* 1982;49: 1998.
30. Clementy J, Falquier JF, Danis C, et al. Electrophysiological properties of acute intravenous sotalol in man. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1981;74 (9):1089.
31. Naitoh N, Taneda K, Tagawa M, et al. Electrophysiologic effects of intravenous MS-551, a novel class III antiarrhythmic agent, on human atrium and ventricle. *Jpn Heart J* 1998;39 (3): 297.
32. Zain B, Zain S, Garan H. Invasive Cardiac Electrophysiology Studies. In: Podrid PJ, Kowey PR. *Assesment and Manegement of Cardiac Arrhythmias*. Baltimore: Williams & Wilkins 1995: p 258.

ANEXOS

CONSENTIMENTO INFORMADO:

Além do termo de consentimento assinado pelo paciente que retrata sobre os riscos do procedimento e efeitos colaterais das principais medicações (em anexo), o paciente receberá um termo referente ao uso de piridostigmina que segue abaixo:

Ações Eletrofisiológicas da Piridostigmina em Humanos.

O presente estudo tem por fim mostrar ou não as ações da piridostigmina na atividade elétrica do coração. Seu médico indicou o estudo eletrofisiológico para investigar seu coração, aproveitando esta indicação convidamos você a participar deste trabalho. Para você aceitar participar é preciso explicar e entender todos os passos com seus riscos e benefícios.

Primeiro você realizará o estudo eletrofisiológico, solicitado pelo seu médico, após você receberá 1 cp de 45mg de mestinon (piridostigmina) e aguardará 1,5h (uma hora e meia) até que a medicação faça efeito para realizar novamente o mesmo procedimento. Durante a espera do segundo exame, sua veia continuará puncionada, já preparada para realização deste.

O mestinon (remédio feito de piridostigmina, usado para fraqueza muscular de origem neurológica é comercializado no Brasil, ou seja é uma medicação bem conhecida e usada no meio médico) pode apresentar efeitos colaterais tais como: arrepios, cólicas de barriga, diminuição dos batimentos do coração, salivação, febre, alucinações. Estes efeitos dependem da dose e são revertidos com antídoto: a atropina. Então caso sinta uma destas reações pode-se usar atropina para reverter tal situação. A dose

empregada neste trabalho e não deve provar efeitos indesejáveis. Não é incomum os pacientes usarem até 2gr de mestinon ao dia com boa tolerância. Então, 45mg é uma dose segura.

Você ata ao par dos riscos do EEF, o fato de você fazer dois exames coloca você sobre o mesmo risco em cada um deles. Aumentará, por sua vez, a chance de sangramentos, permanecer com acesso venoso durante 1,5h (uma hora e meia) entre os dois exames). Com efeito, você realizará dois exames ao invés de um o que acarreta maior tempo de espera.

EU CERTIFICO TER LIDO ESTE TERMO DE CONSENTIMENTO OU QUE ESTE ME FOI LIDO, E QUE O COMPREENDI PLENAMENTE, TENDO RECEBIDO A OPURTUNIDADE DE FAZER PERGUNTAS, E QUE AS RESPOSTAS E INFORMAÇÕES ADICIONAIS FORNECIDAS ME FORAM SATISFATÓRIAS.

Assinatura do paciente ou responsável

Grau de parentesco (se responsável)

Data

Pesquisador